Ann. Inst. Pasteur
1971, *121*, 199-206

SULFATO-RÉDUCTION SPERMOSPHÉRIQUE (*)

par V. JACQ (*) et Y. DOMMERGUES
(avec la collaboration technique de Marie-Claude JEANMAIRE)

(Centre de Pédologie du C.N.R.S., Nancy)

SUMMARY

SULPHATE REDUCTION BY MAIZE SPERMATOSPHERE

In the spermatosphere of maize, intense microbial reduction of sulphate occurs when soil conditions are simultaneously fulfilled: 1. Absence of oxygen diffusion. 2. High content of soluble sulphates. The first condition is met when the soil is waterlogged (either by excessive rains or unskilful irrigation) and when the bulk density reaches a critical level (such as 1.50 in the soil examined in the present study). The second condition is met when the soluble sulphate content of soil is higher than about 200-300 ppm S-$SO_4^{=}$, for example in the case of gypseous soils. Sulphate reduction in the spermatosphere often causes the death of the seeds, possibly because of intoxication by H_2S which has not reacted with the ferrous iron in the soil.



Key words: Maize. Spermatosphere. Sulphate metabolism. Soil microbiology. Soil ecology.

INTRODUCTION

Il est maintenant démontré que, dans les sols suffisamment riches en sulfates, le blocage de la diffusion de l'oxygène vers les racines peut induire la prolifération, *localisée à la rhizosphère,* d'une microflore sulfato-réductrice très active lorsque l'exsudation racinaire est intense. La production d'H_2S au niveau des racines et la formation d'une gaine de sulfures de fer entraînent souvent le dépérissement et la mort de la plante. Nous avons désigné ce processus sous le nom de sulfato-réduction rhizosphérique [4, 5, 8, 9, 10].

La graine, en cours de germination, laissant diffuser des exsudats, comme le fait la racine, la question se posait de savoir si l'environnement immédiat de la graine ou spermosphère pouvait constituer également un habitat favo-

(*) Manuscrit reçu le 22 octobre 1970.

(*) Elève à l'O. R. S. T. O. M. *Adresse actuelle :* O. R. S. T. O. M., B. P. 1386, Dakar (Sénégal).

MASSON et Cie, 120, Bd St-Germain, PARIS (6e)

rable à la prolifération et à l'activité de la microflore sulfato-réductrice lorsque le sol contient suffisamment de sulfates et que la diffusion de l'oxygène y est bloquée. Le but de la présente note consiste précisément à vérifier l'existence de ce dernier processus que nous désignons sous le nom de *sulfato-réduction spermosphérique.*

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La plupart des expériences ont porté sur le sol alluvial salin de Nakta (Tunisie) décrit par ailleurs [4].

Ce sol, caractérisé par une teneur élevée en sulfates insolubles, a été utilisé tel quel, c'est-à-dire *non lavé :* sa teneur en sulfates solubles dans l'eau était alors élevée (602 ppm S-$SO_4^=$). Il a été aussi utilisé sous sa forme *lavée,* sa teneur en sulfates solubles étant alors beaucoup plus faible (124 ppm S-$SO_4^=$). Dans l'expérience 3, à titre de comparaison, on a examiné le comportement du sol brun calcaire de Pixérécourt (Est de la France) décrit par ailleurs [10]. Ce deuxième sol, caractérisé par une teneur faible en sulfates insolubles, est beaucoup plus pauvre que le premier en sulfates solubles (83 ppm S-$SO_4^=$).

Après broyage modéré et homogénéisation, les sols ont été répartis dans des colonnes transparentes de chlorure de polyvinyle de 200 × 50 × 15 mm, de telle façon que leur densité apparente soit de 1,40-1,52 pour le sol de Nakta et de 1,35-1,44 pour le sol de Pixérécourt ; dans le cas de l'expérience 2 relative à l'influence de la densité apparente, on a utilisé un gradient de densités allant de 1,30 à 1,70 obtenu par compaction sous l'effet de chocs d'intensité croissante.

La plante utilisée a été un maïs hybride, variété INRA 420. Avant semis, les graines ont été stérilisées suivant la technique décrite antérieurement [4, 9] et prégermées sur gélose. Dès que la radicule a atteint 1 à 2 mm de longueur, les graines ont été semées à une profondeur de 3-4 cm ; le sol a ensuite été engorgé, sauf dans les témoins de l'expérience 1. Dans le cas de l'expérience 2, les semis ont été effectués à des profondeurs variables comprises entre 0 et 150 mm.

La température a été maintenue à 28° C pendant toute la durée des expériences.

Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées sur le milieu suivant qui est une variante des milieux proposés par Starkey [11] et Abd-El-Malek [1] : NH_4Cl, 2,0 g ; KH_2PO_4, 0,5 g ; $MgSO_4$, $7H_2O$, 2,0 g ; Na_2SO_4, 4,0 g ; $CaCl_2$, 0,1 g ; extrait de levure Difco, 1,0 g ; lactate de sodium, 10,0 ml d'une solution à 60 p. 100 (poids/volume) ; eau distillée q.s.p., 1 l. Le pH est ajusté à 6,5 par NaOH N/10 ; le milieu est stérilisé 20 min à 110° C. Après répartition en tubes 120 × 12, on ajoute dans chaque tube, stérilement, un clou de 10 mm de long, stérilisé pendant 20 min dans une solution de H_2O_2 à 110 volumes diluée 10 fois, et séché à la flamme. L'incubation se fait à 28° C sous vide modéré.

Les sulfures ont été déterminés suivant la technique de Chaudhry et Cornfield [3] et les sulfates par complexométrie, suivant la méthode décrite par Flaschka [7] et modifiée par Peloux (communication personnelle).

On désigne sous le terme de *sol spermosphérique* le sol prélevé dans la zone distante au maximum de 2 à 3 mm de la graine, et par *sol non spermosphérique* le sol prélevé en dehors de la zone d'influence de la graine, c'est-à-dire correspondant à des points éloignés d'au moins 5 cm de la graine.

RÉSULTATS

Expérience 1 : INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT DU SOL

Des graines de maïs ont été semées dans deux lots de sol alluvial salin de Nakta non lavé, à la densité apparente 1,40-1,52 : le premier lot a été maintenu à l'humidité équivalente, le deuxième lot a été submergé. Au bout de 10 jours, la teneur de la spermosphère en sulfures était de 0,40 ppm $S^{=}$ dans le sol à l'humidité équivalente et 31,6 ppm $S^{=}$ dans le sol engorgé (moyenne de 10 mesures). C'est dans le sol engorgé, et dans lui seul, que la germination a été arrêtée : les graines sont mortes en moins de 6-7 jours et se sont décomposées progressivement.

Expérience 2 : INFLUENCE DE LA DENSITÉ APPARENTE DU SOL ET DE LA PROFONDEUR DU SEMIS

Une centaine de graines ont été semées à des profondeurs variant entre 0 et 15 cm dans des colonnes du sol alluvial salin de Nakta non lavé de densité croissante (1,30 à 1,70) engorgé immédiatement après le semis. Les

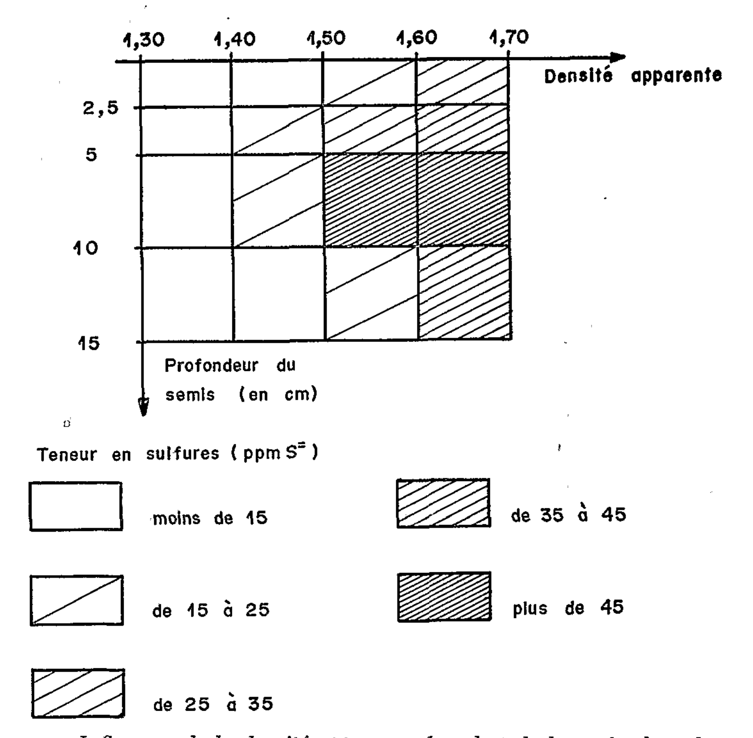


FIG. 1. — *Influences de la densité apparente du sol et de la profondeur du semis sur la teneur en sulfures de la spermosphère du maïs.*
(Sol salin de Nakta non lavé ; dosages effectués au 10e jour.)

résultats des dosages de sulfures dans la spermosphère, effectués après 10 jours, ont été regroupés dans la figure 1.

On peut distinguer 3 zones de densités apparentes où la mortalité est différente :

1° *Dans la zone où la densité apparente dépasse 1,55,* la production de sulfures a été surtout abondante dans la spermosphère des graines placées à une profondeur supérieure à 5 cm : 90 p. 100 sont mortes. Celles qui ont été semées à une profondeur moindre ont survécu, dans 70 p. 100 des cas, car les plantules ont réussi à dépasser la surface du sol suffisamment tôt.

2° *Dans la zone où la densité apparente est comprise entre 1,45 et 1,55,* 10 à 15 p. 100 seulement des graines sont mortes, même lorsqu'elles ont été semées au-delà de 5 cm de profondeur.

3° *Dans la zone où la densité apparente est inférieure à 1,45,* la faible quantité de sulfures produite a ralenti la germination mais ne l'a pas arrêtée.

La figure 2 montre clairement qu'*en surface,* la spermosphère n'est pas le siège d'une sulfato-réduction sensible, de sorte que les graines sont restées vivantes et ont donné naissance à des plantes normales. *En profondeur,* la sulfato-réduction, qui se manifeste par une auréole noire de sulfures de fer, a entraîné la mort des graines : en effet, même replacées dans des conditions favorables, (c'est-à-dire après ressuyage du sol) elles n'ont pas poursuivi leur germination.

Remarque.

Comme les colonnes de chlorure de polyvinyle utilisées pour les expériences ne sont pas étanches à leur base, l'oxygène a diffusé par la partie inférieure et a ralenti sensiblement la sulfato-réduction dans la spermosphère des graines semées entre 10 et 15 cm de profondeur, c'est-à-dire à la base des colonnes de sol.

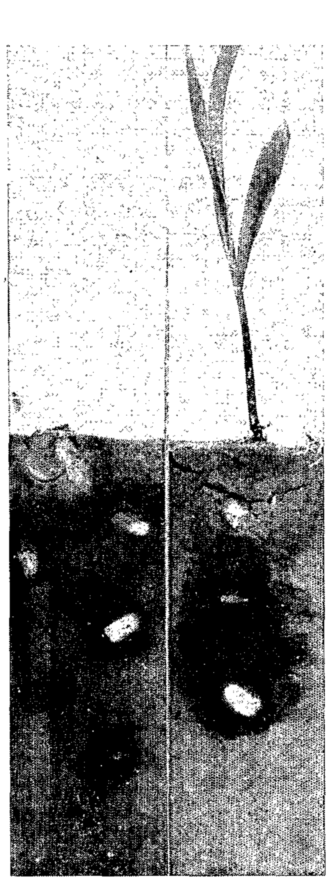


FIG. 2. — *Influence de la profondeur du semis sur l'accumulation des sulfures dans la spermosphère.*

(Le sol utilisé est le sol salin de Nakta non lavé amené à une densité apparente de 1,45.)

Expérience 3 : INFLUENCE DE LA TENEUR DU SOL EN SULFATES SOLUBLES

Cette expérience a été conduite d'une part avec le sol alluvial salin de Nakta lavé, d'autre part avec le sol brun calcaire de Pixéricourt, ces deux sols ayant un pH

voisin de 8,0 (8,2 pour le premier, 7,8 pour le second). A chacun des sols on a ajouté des doses croissantes de sulfates sous forme de $(NH_4)_2SO_4$ avant d'effectuer les semis et de provoquer l'engorgement.

Au bout de 14 jours, on a dosé les sulfures et on a dénombré les bactéries sulfato-réductrices dans la spermosphère. La figure 3 où sont regroupés les résultats montre les faits suivants :

a) La production de sulfures croît avec la dose de sulfates solubles présents dans le sol ; le nombre des bactéries sulfato-réductrices dans l'un et l'autre sol (BN, BP) présente un maximum pour une teneur en S-$SO_4^=$ de 200 à 300 ppm.

b) Dans l'un des sols (Pixérécourt : SP) la production de sulfures est moins importante que dans l'autre (Nakta : SN), cette différence pouvant s'expliquer par le fait que la densité apparente du premier sol est un peu inférieure à celle du deuxième (1,41 en moyenne contre 1,47) et surtout par

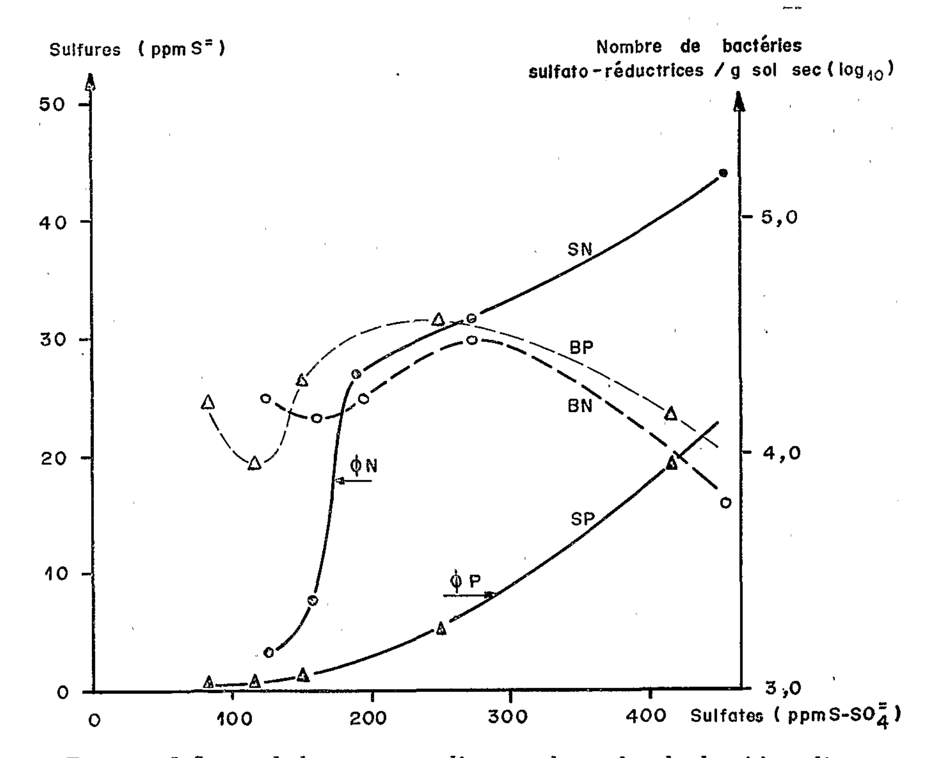


Fig. 3. — *Influence de la teneur en sulfates sur le nombre des bactéries sulfato-réductrices et la teneur en sulfures de deux sols spermosphériques.*

BN : Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique de Nakta. — BP : Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique de Pixérécourt. — SN : Teneur en sulfures du sol spermosphérique de Nakta. — SP : Teneur en sulfures du sol spermosphérique de Pixérécourt. — ϕN : Seuil de sulfates dans le sol de Nakta (170 ppm S-$SO_4^=$). — ϕP : Seuil de sulfates dans le sol de Pixérécourt (280 ppm — S-$SO_4^=$).

(Les dosages ont été effectués au 14e jour.)

le fait que le deuxième présente une importante réserve en sulfates insolubles.

Les seuils de sulfates au-delà desquels la sulfato-réduction se manifeste avec une probabilité de 95 p. 100 ont été calculés par la méthode de Dunnett [6] : pour le sol de Natka (ϕ N) il est de 170 ppm S-$SO_4^{=}$ et pour le sol de Pixérécourt (ϕ P) il est de 280 ppm S-$SO_4^{=}$.

Expérience 4 : Evolution dans le temps du nombre de bactéries sulfato-réductrices et de la teneur en sulfures dans le sol spermosphérique et non spermosphérique (fig. 4)

Cette expérience conduite avec le sol salin de Nakta non lavé, engorgé, de densité apparente 1,55, montre que le nombre des bactéries sulfato-réductrices a augmenté pendant les 5 premiers jours jusqu'à des valeurs comprises entre 10^5 et 10^6 unités par g de sol sec, puis a diminué assez lentement. Le nombre des bactéries dans le sol spermosphérique (Bsp) est plus élevé que dans le sol non spermosphérique (Bo) ; mais la différence entre les deux sols est faible.

Il n'y a pas parallélisme entre la croissance des bactéries sulfato-réductrices et la production de sulfures, celle-ci continuant à s'élever fortement dans la spermosphère après le 5e jour. L'accumulation de sulfures dans le sol non spermosphérique (So) a été négligeable par rapport à l'accumulation de sulfures dans le sol spermosphérique (Ssp).

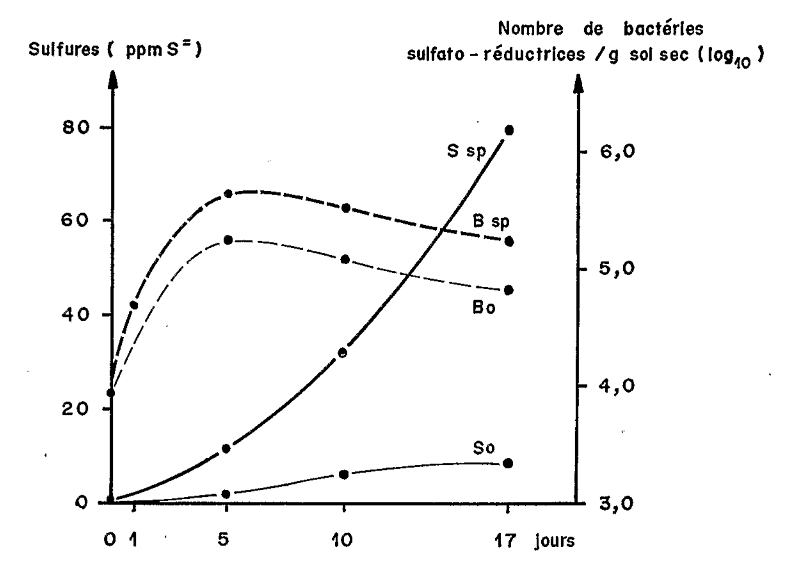


Fig. 4. — *Evolution dans le temps du nombre de bactéries sulfato-réductrices et de la teneur en sulfures dans le sol spermosphérique et non spermosphérique.* (Sol salin de Nakta non lavé.)

Bsp : Bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique. — Bo : Bactéries sulfato-réductrices dans le sol non spermosphérique. — Ssp : Teneur en sulfures dans le sol spermosphérique. So : Teneur en sulfures dans le sol non spermosphérique.

CONCLUSIONS

1° La sulfato-réduction spermosphérique se manifeste lorsque les deux conditions suivantes sont réunies dans l'environnement spermosphérique : anaérobiose et teneur du sol en sulfates suffisamment élevée.

a) L'anaérobiose est consécutive à l'arrêt de la diffusion de l'oxygène dans la spermosphère. Cette condition est remplie dans les sols *engorgés* (par irrigation ou pluies excessives) et dont *la densité* apparente est élevée (structure défectueuse). Bien entendu, l'oxygène parvient d'autant plus difficilement dans la spermosphère que la graine est semée plus profondément.

b) La deuxième condition est réalisée dans les sols dont la teneur en sulfates est supérieure à 200-300 ppm $S\text{-}SO_4^{=}$. C'est notamment le cas (α) des sols gypseux, qui sont très fréquents en zone aride et semi-aride, (β) des sols non gypseux irrigués avec des eaux renfermant des sulfates [4] (γ) de certains sols de rizières renfermant des sulfates [2].

2° L'origine de la mort des graines à la suite de l'accumulation de sulfures dans la spermosphère n'a pas été élucidée ; il s'agit vraisemblablement d'une intoxication par H_2S qui n'a pas réagi sur le fer ferreux du sol. Rappelons à ce sujet qu'une dose de 30 ppm $S^{=}$ sous forme de H_2S dissous, dans un milieu de culture hydroponique, est mortelle pour le maïs [8].

3° L'absence de parallélisme entre le nombre de bactéries sulfato-réductrices et l'accumulation de sulfures dans la spermosphère pourrait s'expliquer par l'une ou/et l'autre des trois hypothèses suivantes : *a*) les sulfures formés proviendraient de la minéralisation de composés organiques soufrés exsudés par les graines ; en d'autres termes, il n'y aurait pas intervention de bactéries sulfato-réductrices, mais de microorganismes minéralisateurs du soufre organique ; *b*) la technique de numération utilisée serait imparfaite et ne permettrait de déceler qu'une partie des « espèces » bactériennes impliquées dans la sulfato-réduction ; *c*) l'activité des bactéries sulfato-réductrices serait indépendante de leur biomasse. L'hypothèse *a*) doit être rejetée car la production de sulfures dépend étroitement de la teneur du sol en sulfates ; en particulier il n'y a pas accumulation de sulfures en présence des seuls exsudats des graines (fig. 3). Quant aux hypothèses, *b*) et *c*), leur validité devra être examinée ultérieurement à l'aide de modèles gnotobiotiques.

4° L'intérêt du concept de spermosphère qui fut avancé par Verona [12], est souligné par la présente étude, d'où il ressort que les exsudats des graines peuvent modifier considérablement l'habitat où elles germent et induire le développement de microorganismes saprophytes dont l'activité leur est défavorable.

RÉSUMÉ

La spermosphère du maïs est le siège d'une sulfato-réduction intense lorsque, dans le sol, les deux conditions suivantes sont réunies : 1° absence de diffusion de l'oxygène ; 2° teneur élevée en sulfates solubles. La première condition est remplie quand le sol est engorgé (soit par des pluies excessives, soit par une

irrigation mal conduite), et quand la densité apparente atteint un seuil critique (environ 1,50 dans le sol étudié ici). La seconde condition est réalisée lorsque la teneur en sulfates solubles du sol dépasse environ 200-300 ppm S-$SO_4^{=}$, ce qui est notamment le cas des sols gypseux.

La sulfato-réduction spermosphérique entraîne souvent la mort des semences, vraisemblablement par intoxication par l'H_2S qui n'a pas réagi sur le fer ferreux du sol.



Mots clés : Maïs. Spermosphère. Sulfato-réduction. Sols salins.

BIBLIOGRAPHIE

[1] Abd-el-Malek (Y.) and Rizk (S. G.). Counting of sulphate reducing bacteria in mixed bacterial populations. *Nature,* 1958, *182,* 538-539.
[2] Boulaine (J.). Les maladies physiologiques du riz. *Bull. Inform. Riziculteurs France,* 1960, 16 p.
[3] Chaudhry (I. A.) and Cornfield (A. H.). Determination of sulphide in waterlogged soils. *Pl. Soil,* 1966, *25,* 474-478.
[4] Dommergues (Y.), Combremont (R.), Beck (G.) et Ollat (C.). Note préliminaire concernant la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. *Rev. Ecol. Biol. Sol,* 1969, *6,* 115-129.
[5] Dommergues (Y.), Jacq (V.) et Beck (G.). Influence de l'engorgement sur la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin. *C. R. Acad. Sci.,* Paris, 1969, *268,* 605-608.
[6] Dunnett (C. W.). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Amer. Stat. Ass. J.,* 1955, *50,* 1096-1121.
[7] Flaschka (H. A.). E. D. T. A. titrations. Pergamon Press, London, 1959.
[8] Jacq (V.). Etude de la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. D. E. A., Fac. Sci., Nancy, 1969.
[9] Jacq (V.). Facteurs édaphiques régissant la sulfato-réduction rhizosphérique et la sulfato-réduction spermosphérique. Thèse Doct. Spécialité Pédologie, Fac. Sci., Nancy, 1970.
[10] Jacq (V.), Dommergues (Y.). Sulfato-réduction rhizosphérique et spermosphérique : influence de la densité apparente du sol. *C. R. Acad. Agricult. Fr.,* 1970, *56,* 511-519.
[11] Pichinoty (J.). Mesure de l'activité de quelques réductases de microorganismes. *Information exchange group n° 1.* Scientific memo., 1966, n° 555, 1-13.
[12] Verona (O.). La spermosphère. *Ann. Inst. Pasteur,* 1958, *95,* 795-798.